

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2022.10054

熊发前, 刘菁, 韩柱强, 阳太亿, 唐秀梅, 唐荣华, 钟瑞春, 蒋菁, 贺梁琼, 吴海宁, 黄志鹏, 刘俊仙. BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 *RT* 基因的多样性分析[J]. 植物科学学报, 2022, 40(1): 54~65Xiong FQ, Liu J, Han ZQ, Yang TY, Tang XM, Tang RH, Zhong RC, Jiang J, He LQ, Wu HN, Huang ZP, Liu JX. Diversity analysis of reverse transcriptase gene of long terminal repeat retrotransposons in *Arachis ipaensis* Krapov. et W. C. Greg. with BB genome[J]. *Plant Science Journal*, 2022, 40(1): 54~65

# BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 *RT* 基因的多样性分析

熊发前<sup>1</sup>, 刘菁<sup>1</sup>, 韩柱强<sup>1</sup>, 阳太亿<sup>1</sup>, 唐秀梅<sup>1</sup>, 唐荣华<sup>1</sup>, 钟瑞春<sup>1</sup>,  
蒋菁<sup>1</sup>, 贺梁琼<sup>1</sup>, 吴海宁<sup>1</sup>, 黄志鹏<sup>1</sup>, 刘俊仙<sup>2\*</sup>

(1. 广西农业科学院经济作物研究所, 南宁 530007; 2. 广西农业科学院甘蔗研究所, 农业农村部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室, 广西甘蔗遗传改良重点实验室, 南宁 530007)

**摘要:** 利用简并 PCR 技术从野生花生种 (*Arachis ipaensis* Krapov. et W. C. Greg.) 的基因组中扩增分离 Ty1-copia 类(1类)和 Ty3-gypsy 类(2类)反转录转座子 *RT* 基因, 并对其序列特征、多样性、系统进化关系及转录活性进行分析。结果显示: 对于 1 和 2 类 *RT* 基因, 目的条带分别约为 260 和 430 bp; 分离获得了 23 和 32 条序列, 长度范围分别为 262 ~ 266、395 ~ 435 bp; AT 所占比例分别为 61.60% ~ 69.17% 和 55.79% ~ 61.34%; 核苷酸序列间相似性分别为 52.5% ~ 98.9% 和 45.0% ~ 98.8%, 氨基酸序列间相似性分别为 39.8% ~ 100% 和 9.0% ~ 97.2%。其中 2 类基因的异质性高于 1 类; 1 类和 2 类基因分别有 3 条和 15 条发生了无义突变, 2 类的无义突变发生率远高于 1 类。1 类基因的保守基序保守性较高, 2 类的保守基序呈一定程度的变异。代表序列的蛋白质三级结构基本类似。聚类分析结果显示, 1 类和 2 类基因可被分为 5 个和 6 个家族。1 类和 2 类基因都有部分序列与其他物种的 *RT* 基因序列亲缘关系较近, 表明它们之间可能存在两类反转录转座子的横向传递。通过比对花生 EST 数据库, 本研究发现 1 类有 1 条以及 2 类有 7 条序列为具有转录活性的反转录转座子, 且 2 类基因比 1 类更具有转录活性。

**关键词:** 花生; 野生种; LTR 反转录转座子; 反转录酶; 多样性

中图分类号: Q943.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2022)01-0054-12

## Diversity analysis of reverse transcriptase gene (*RT*) of long terminal repeat retrotransposons in *Arachis ipaensis* Krapov. et W. C. Greg. with BB genome

Xiong Fa-Qian<sup>1</sup>, Liu Jing<sup>1</sup>, Han Zhu-Qiang<sup>1</sup>, Yang Tai-Yi<sup>1</sup>, Tang Xiu-Mei<sup>1</sup>, Tang Rong-Hua<sup>1</sup>,  
Zhong Rui-Chun<sup>1</sup>, Jiang Jing<sup>1</sup>, He Liang-Qiong<sup>1</sup>, Wu Hai-Ning<sup>1</sup>, Huang Zhi-Peng<sup>1</sup>, Liu Jun-Xian<sup>2\*</sup>

(1. Cash Crops Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China;  
2. Sugarcane Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement (Guangxi), Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Nanning 530007, China)

收稿日期: 2021-07-21, 修回日期: 2021-09-15。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960409; 31960416)、广西自然科学基金项目 (2018GXNSFDA281027; 2018GXNSFDA294004; 2020GXNSFAA297081); 广西农业科学院科技发展基金项目(桂农科 2018YM06; 桂农科 2017JZ13; 桂农科 31960409; 桂农科 2021YT052)。

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31960409; 31960416), Guangxi Natural Science Foundation Program (2018GXNSFDA281027; 2018GXNSFDA294004; 2020GXNSFAA297081), and Guangxi Academy of Agricultural Sciences Fund Project (GNK2017JZ13; GNK2018YM06; GNK31960409; GNK2021YT052)。

作者简介: 熊发前(1983-), 男, 博士研究生, 研究员, 研究方向为花生种质资源和遗传育种及分子生物学(E-mail: xfq2002@126.com)。

\* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: liujunxian868@163.com)。

**Abstract:** The reverse transcriptase gene (*RT*) sequences of Ty1-copia-like (Type 1) and Ty3-gypsy-like retrotransposons (Type 2) were amplified and isolated from the *Arachis ipaensis* Krapov. et W. C. Greg. with BB genome by degenerate polymerase chain reaction (PCR). Sequence characteristics, diversity, phylogenetic relationships, and transcriptional activity were then analyzed. Results showed that the target bands for types 1 and 2 were 260 bp and 430 bp in size, respectively. 23 sequences of type 1 retrotransposons and 32 sequences of type 2 retrotransposons were obtained. Sequence lengths of type 1 and type 2 ranged from 262 to 266 bp and from 395 to 435 bp, respectively. The proportion of AT content in type 1 and type 2 ranged from 61.60% to 69.17% and from 55.79% to 61.34%, respectively. Similarity between nucleotide sequences in type 1 and type 2 ranged from 52.5% to 98.9% and from 45.0% to 98.8%, respectively. The similarity between amino acid sequences of type 1 and type 2 ranged from 39.8% to 100% and from 9.0% to 97.2%, respectively. The heterogeneity of type 2 was higher than that of type 1. There were three and 15 nonsense mutations in type 1 and type 2, respectively. The incidence of nonsense mutations in type 2 was much higher than that in type 1. The conserved motifs of type 1 were highly conserved, while the conserved motifs of type 2 showed a certain degree of variation. The protein tertiary structures were similar in overall configuration. Type 2 had more differences in protein structure than type 1. Based on cluster analysis, type 1 and type 2 were divided into five and six families, respectively. The phylogenetic tree showed that type 1 and type 2 were divided into four and 11 classes, respectively, but type 2 sequence categories and diversity were significantly higher than that of type 1. Several type 1 and 2 *RT* gene sequences were closely related to the *RT* gene sequences of other species, indicating possible horizontal transmission of retrotransposons. When searching the peanut EST database, one type 1 and seven type 2 sequences from the *A. ipaensis* BB genome showed transcriptional activity. The type 2 retrotransposons showed greater transcriptional activity than the type 1 retrotransposons. This study not only provides sequences for the isolation of full-length LTR retrotransposons and for studies on their transcriptional activity and function, but also lays the foundation for the development of molecular markers based on LTR retrotransposons in the *Arachis* genus.

**Key words:** *Arachis hypogaea*; Wild species; Long terminal repeat retrotransposons; Reverse transcriptase; Diversity

花生 (*Arachis hypogaea* L.) 被誉为“长生果”，全世界有 106 个国家种植。花生是我国主要食用油原料，我国是世界上重要的花生生产国，种植面积约  $4.3 \times 10^7 \text{ hm}^2$ ，总产约  $1.4 \times 10^{10} \text{ kg}$ ，约占世界总产量的 40%，居世界首位。保障花生产业持续健康稳定发展的最有效途径是选育优良花生新品种。当前我国选育出的花生品种主要是利用传统杂交育种，但传统杂交育种存在周期长、效率低、盲目性强等缺点，而分子育种可以对常规杂交后代进行定向精准选择从而加速育种进程，但是缺少简单、实用、高效的 DNA 分子标记是花生分子

育种主要制约瓶颈之一。

在形态、品质、抗性等表型上，栽培种花生存在着较丰富的变异，但起源及育种栽培中的定向选择导致栽培种花生遗传基础非常狭窄，虽然利用常规分子标记技术能检测到花生栽培种中一定量的 DNA 多态性，但这些技术存在重复性差、操作复杂、成本高和多态性不高等缺点。研究表明，SSR 标记在栽培种花生间存在较丰富的多态性，使其成为当前检测栽培种花生 DNA 多态性的主要分子标记，但能在任意两个品种间检测出 DNA 多态性的 SSR 标记较少<sup>[1, 2]</sup>。近年来，有研究利用高通量测

序技术来开发栽培种花生 SNP 标记, 但 SNP 标记的检测对设备要求高, 且很难在不同实验室之间通用。因此, 有必要在花生上开发新的简单、实用、高效的分子标记。

转座子是指能从同一条染色体或不同染色体上的一个位点转移到另外一个位点的可移动 DNA 序列<sup>[3]</sup>。转座子包括反转录转座子和 DNA 转座子, 反转录转座子包括 LTR 和非 LTR 反转录转座子, LTR 反转录转座子主要包括 *Ty1-copia* 和 *Ty3-gypsy*<sup>[4-6]</sup>, 通过简并 PCR 技术可以扩增这两类 LTR 反转录转座子内部的 *RT* 基因保守区序列。LTR 反转录转座子具有插入位点多态性、拷贝数丰富、高度异质性和普遍性, 非常适合用于分子标记开发, 基于 LTR 反转录转座子的分子标记技术主要有序列特异扩增多态性(S-SAP)、反转录转座子位点间扩增多态性(IRAP)和反转录转座子-微卫星扩增多态性(REMAP)<sup>[7, 8]</sup>等。

转座子在花生上的研究近年来才逐渐兴起, 主要集中在利用 *AhMITE1s* 转座子分子标记检测栽培种花生的 DNA 多态性和鉴定  $F_1$  杂种的真实性上<sup>[9-23]</sup>。另外, 也有研究对 MITEs 转座子分子标记与 SSR 分子标记和其他类型分子标记在揭示栽培种花生的 DNA 多态性的能力上进行了比较<sup>[12, 13]</sup>。而有关花生 LTR 反转录转座子的研究报道较少。Nielen 等<sup>[24, 25]</sup>先后克隆出花生 *Ty3-gypsy* 类 LTR 反转录转座子全长的 *FIDEL* 和 *Ty1-copia* 类反转录转座子全长的 *Matita* 基因, 对其拷贝数、染色体分布和系统进化进行了分析, 最后探讨了其在花生基因组进化和多样性形成过程中所起的作用。

笔者曾系统的对花生在 LTR 反转录转座子和 MITE 转座子的分离及其分子标记开发利用的研究进展进行了归纳<sup>[26]</sup>, 但迄今尚未见对 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 *RT* 基因序列进行分离和多样性分析的报道。本研究拟分离 BB 染色体组野生种花生的 *Ty1-copia* 类(1类)和 *Ty3-gypsy* 类(2类)反转录转座子 *RT* 基因, 分析其序列特征及多样性, 揭示这两类序列组成和变异模式及其与其他物种之间的系统发育关系, 研究结果旨在为进一步研究其转录转座活性和功能提供依据, 也为基于 LTR 反转录转座子的花生属分子标记开发和

应用奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

所用 BB 染色体组野生花生种为 *A. ipae-nsis* Krapov. et W. C. Greg., 国际编号为 PI468322, 该种质保存于武汉国家种质野生花生圃南宁分圃。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因组 DNA 的提取

采集野生花生的新鲜幼嫩心叶, 采用改良 CTAB 法提取基因组 DNA<sup>[27]</sup>。

#### 1.2.2 *RT* 基因的 PCR 扩增

*Ty1-copia* 类反转录转座子 *RT* 基因的 PCR 扩增引物参照 Kumar 等<sup>[3]</sup>的文献, 上游引物 RTp1: 5'-ACNGCNTYYTNCAYGG-3', 下游引物 RTp2: 5'-ARCATRTCRTCNACRTA-3'。*Ty3-gypsy* 类反转录转座子 *RT* 基因的 PCR 扩增引物参照 Kume-kawa 等<sup>[28]</sup>的文献, 上游引物 Gyrt1: 5'-AGMGRATGTGYGTSGAYTAT-3'; 下游引物 Gyrt2: 5'-CAMCCMRAAMWCACAMTT-3'。其中, R=A/G、Y=C/T、M=A/C、S=C/G、W=A/T、N=A/T/C/G。PCR 扩增反应体系、扩增程序以及 PCR 产物的分离检测参考文献<sup>[27]</sup>进行。并对扩增产物进行回收、克隆及测序。

#### 1.2.3 *RT* 基因的序列分析

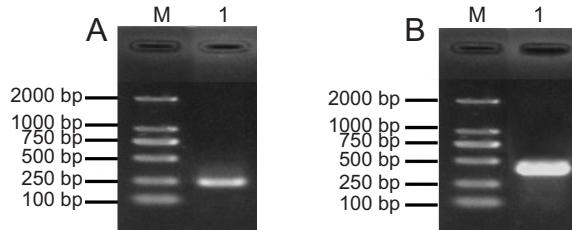
序列相似性检索、序列统计分析、序列图及 Logo 图生成、蛋白质的二级结构和三级结构预测、蛋白质三级结构的转角数和氢键数统计、保守基序预测等参考文献<sup>[29]</sup>进行。运用 MEGA6.0 软件的邻接法(No. of differences 模型)构建系统进化树, 自展值设置为 1000。与花生 EST 数据库进行比对, 鉴定具有转录活性的 LTR 反转录转座子。

## 2 结果与分析

### 2.1 LTR 反转录转座子 *RT* 基因的 PCR 扩增及测序

扩增结果显示, 1类和2类的序列长度分别约为 260、430 bp(图 1), 与前人在裸燕麦(*Avena nuda* L.)和兴安落叶松(*Larix gmelinii* (Ruprecht) Kuzeneva)中的研究结果一致<sup>[30, 31]</sup>, 表明 LTR

反转录转座子广泛存在于 BB 染色体组野生种花生中。经去除重复序列和非 *RT* 基因序列后, 本研究获得了 23 条 1 类序列和 32 条 2 类序列。进一步对这些 *RT* 基因序列进行多重比对, 得到了每个位置上碱基保守性程度反映的 weblogo 图(图 2)。



A: Ty1-copia; B: Ty3-gypsy; M: DL2000 marker; 1: *Arachis ipaensis*.

图 1 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 *RT* 基因的 PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplification of LTR retrotransposon reverse transcriptase gene (*RT*) from *Arachis ipaensis*

## 2.2 LTR 反转录转座子 *RT* 基因序列分析

研究结果表明, 1 类基因的序列长度为 262 ~ 266 bp, 除 *AiRT1-3* 和 *AiRT1-42* 外, 剩余 21 条序列长度均为 266 bp, 占总序列数的 91.3%; A、T、C、G 数量范围分别为 75 ~ 88、81 ~ 97、31 ~ 42 和 48 ~ 67, AT 所占比例为 61.60% ~ 69.17% (表 1); 核苷酸序列相似性为

52.5% ~ 98.9%, 氨基酸序列相似性为 39.8% ~ 100%。2 类基因的序列长度范围为 395 ~ 435 bp, 其中 22 条序列的长度为 432 bp; A、T、C、G 数量分别为 112 ~ 144、109 ~ 144、55 ~ 85 和 90 ~ 117, AT 所占比例为 55.79% ~ 61.34% (表 1); 核苷酸序列相似性为 45.0% ~ 98.8%, 氨基酸序列相似性为 9.0% ~ 97.2%。因此, BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 *RT* 基因序列具有较高的异质性, 利用简并引物从同一种质中扩增出来的单一目的条带是一个混合物, 包含很多序列, 这些序列在长度、碱基组成及序列相似性等方面呈现出多态性和异质性。

## 2.3 LTR 反转录转座子 *RT* 基因序列的聚类分析

本研究发现, 1 类被分为 5 个家族 (I ~ V), 分别包括 8、4、6、4 和 1 条序列, 其中家族 V 的序列 *AiRT1-42* 与其他家族序列遗传距离最大, 亲缘关系最远, 单独形成 1 个家族 (图 3: A)。2 类被分为 6 个家族 (I ~ VI), 分别包括 11、8、4、4、4 和 1 条序列, 家族 I 和家族 II 分别占到了总序列数的 34.38% 和 25% (图 3: B)。家族间以及家族内的差异主要是由碱基不同程度的缺失突变、点突变和替换引起, 从而导致 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子产生了较高的异质性和多拷贝。

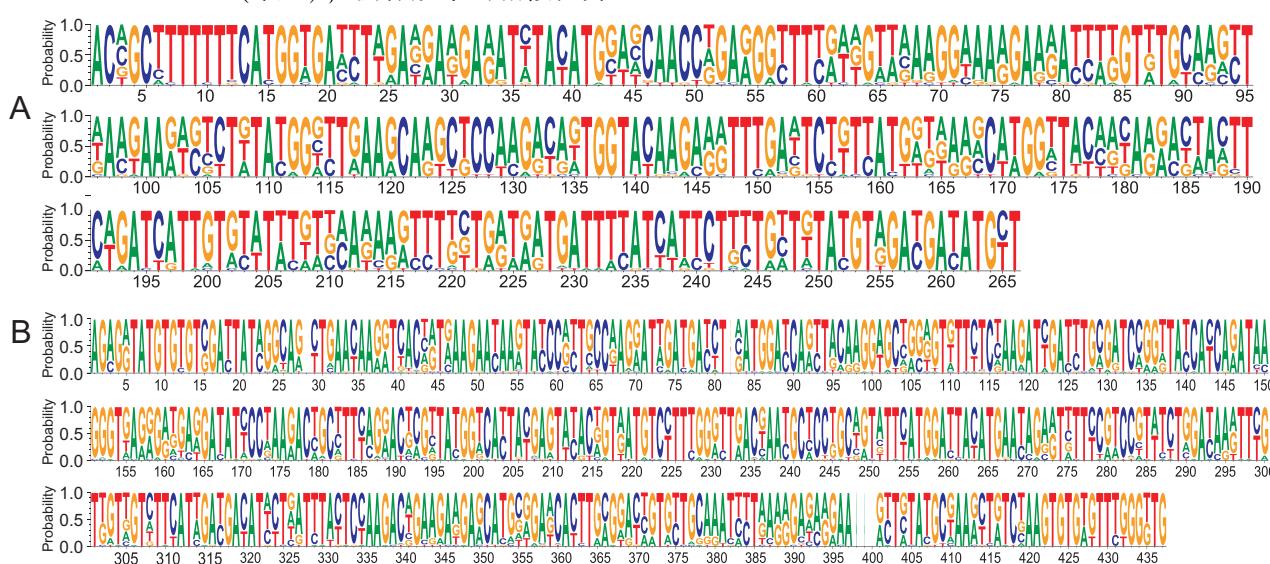


图 2 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 *RT* 基因序列比对

Fig. 2 Sequence alignment of LTR retrotransposon reverse transcriptase gene (*RT*) amplified from *Arachis ipaensis*

表1 BB染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 *RT* 基因序列的基本信息Table 1 Basic information on LTR retrotransposon reverse transcriptase gene (*RT*) sequences amplified from *Arachis ipaensis*

序列编号 Sequence No.	大小 Size/bp	AT 含量 / % AT content	AT/GC	登录号 Accession No.
AiRT1-1	266	69.17	2.24	MK830498
AiRT1-2	266	62.41	1.66	MK830499
AiRT1-3	262	66.03	1.94	MK830500
AiRT1-4	266	61.65	1.61	MK830501
AiRT1-5	266	62.41	1.66	MK830502
AiRT1-6	266	63.16	1.71	MK830503
AiRT1-8	266	63.53	1.74	MK830504
AiRT1-9	266	63.53	1.74	MK830505
AiRT1-10	266	62.78	1.69	MK830506
AiRT1-11	266	62.41	1.66	MK830507
AiRT1-13	266	65.41	1.89	MK830508
AiRT1-15	266	65.04	1.86	MK830509
AiRT1-17	266	64.66	1.83	MK830510
AiRT1-18	266	64.66	1.83	MK830511
AiRT1-19	266	63.91	1.77	MK830512
AiRT1-22	266	61.65	1.61	MK830513
AiRT1-28	266	67.67	2.09	MK830514
AiRT1-37	266	63.16	1.71	MK830515
AiRT1-39	266	62.78	1.69	MK830516
AiRT1-42	263	61.60	1.60	MK830517
AiRT1-44	266	64.29	1.80	MK830518
AiRT1-45	266	63.91	1.77	MK830519
AiRT1-47	266	66.54	1.99	MK830520
变化范围	262 ~ 266	61.60 ~ 69.17	1.30 ~ 2.24	—

续表1

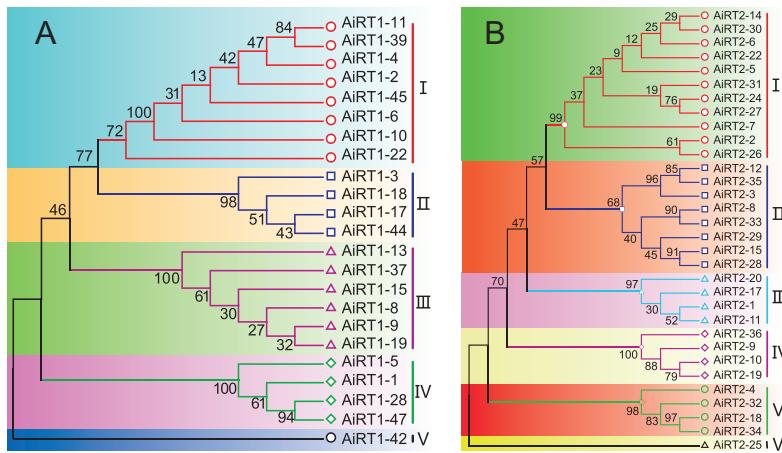
序列编号 Sequence No.	大小 Size/bp	AT 含量 / % AT content	AT/GC	登录号 Accession No.
AiRT2-26	431	57.54	1.36	MK830338
AiRT2-27	432	56.48	1.30	MK830339
AiRT2-28	432	61.34	1.59	MK830340
AiRT2-29	432	60.65	1.54	MK830341
AiRT2-30	430	56.98	1.32	MK830342
AiRT2-31	432	56.48	1.30	MK830343
AiRT2-32	434	58.06	1.38	MK830344
AiRT2-33	432	58.56	1.41	MK830345
AiRT2-34	433	58.43	1.41	MK830346
AiRT2-35	434	59.91	1.51	MK830347
AiRT2-36	435	57.93	1.40	MK830348
变化范围	395 ~ 435	55.79 ~ 61.34	1.26 ~ 1.59	—

2.4 LTR 反转录转座子 *RT* 基因的氨基酸序列分析

本研究发现, 1类中的 AiRT1-3、AiRT1-13 和 AiRT1-45 分别在第 81、16 和 45 个氨基酸处发生了 1 个无义突变, 优化联配后发现序列 AiRT1-3 在 50 ~ 60 位点处存在 5 个氨基酸缺失的现象(图 4: A)。2类中有 15 条序列发生了 1 ~ 13 个无义突变, 其中 AiRT2-15 的无义突变最多, 分别发生在第 39、41、54、62、79、90、98、106、112、116、131、136、139 个氨基酸处; AiRT2-30 在第 49、51、72、77、88、97、104、113、138、140 个氨基酸处发生了 10 个无义突变; AiRT2-7 在第 51、55、87、95、102、111、136 个氨基酸处发生了 7 个无义突变; AiRT2-24(第 72、77、88、108、128 个氨基酸处)和 AiRT2-32(第 9、88、104、108、123 个氨基酸处)各发生了 5 个无义突变; AiRT2-34 发生了 4 个无义突变(第 88、104、108、123 个氨基酸处); AiRT2-3(第 76、116 个氨基酸处)、AiRT2-18(第 18、26 个氨基酸处), AiRT2-22(第 32、43 个氨基酸处)和 AiRT2-26(第 121、128 个氨基酸处)各发生了 2 个无义突变; AiRT2-8(第 9 个氨基酸处)、AiRT2-9(第 9 个氨基酸处)、AiRT2-25(第 129 个氨基酸处)、AiRT2-28(第 43 个氨基酸处)和 AiRT2-33(第 9 个氨基酸处)各发生了 1 个无义突变(图 4: B)。1类和2类均未发现连续无义突变的现象, 无义突变会导致反转录转座子活性的丧失。

2.5 LTR 反转录转座子 *RT* 基因蛋白质结构的预测

蛋白质的二级结构和三级结构预测结果显示,

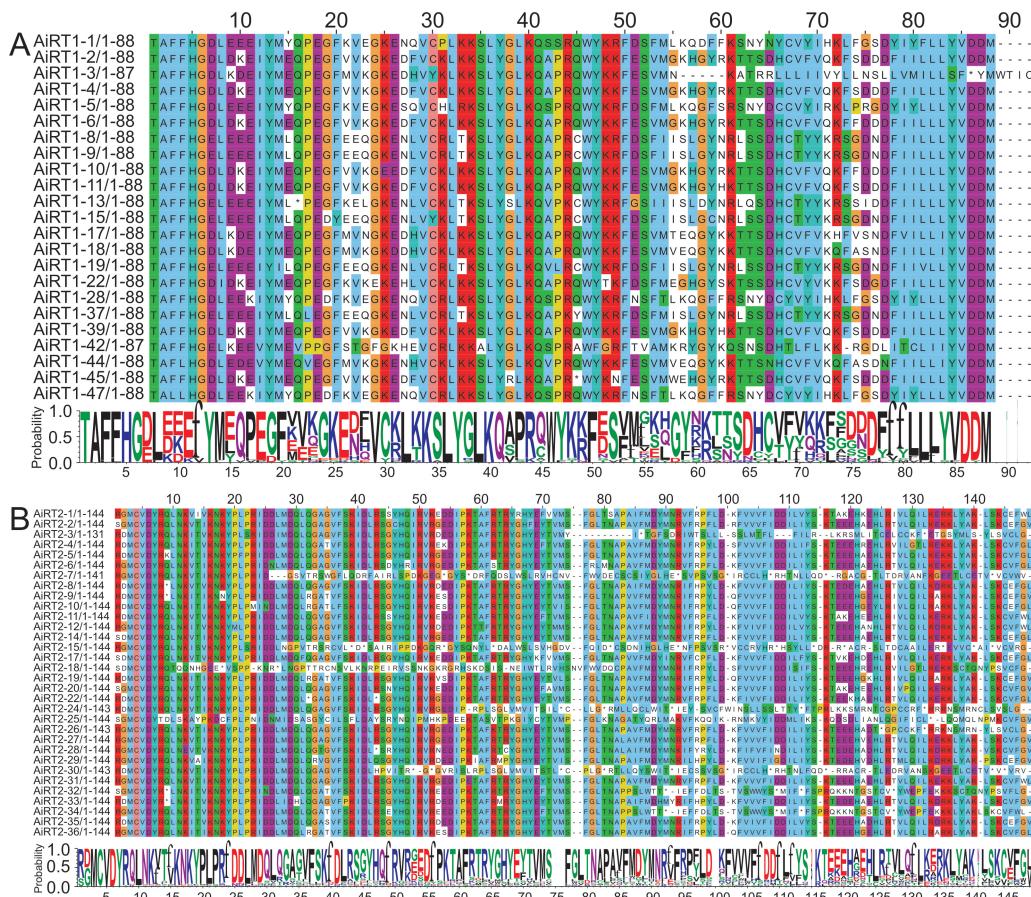


A: Ty1-copia; B: Ty3-gypsy.

节点处的数值表示 1000 次重复得到的自展值。

Numbers at branch nodes indicate bootstrap support out of 1000 replications.

图 3 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 RT 基因序列聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of LTR retrotransposon reverse transcriptase gene (RT) sequences amplified from *Arachis ipaensis*

A: Ty1-copia; B: Ty3-gypsy.

\*: 终止密码子; -: 优化联配产生的缺口。

\*: Stop code; -: Gaps introduced for optimal alignment.

图 4 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 RT 基因编码氨基酸多重比对

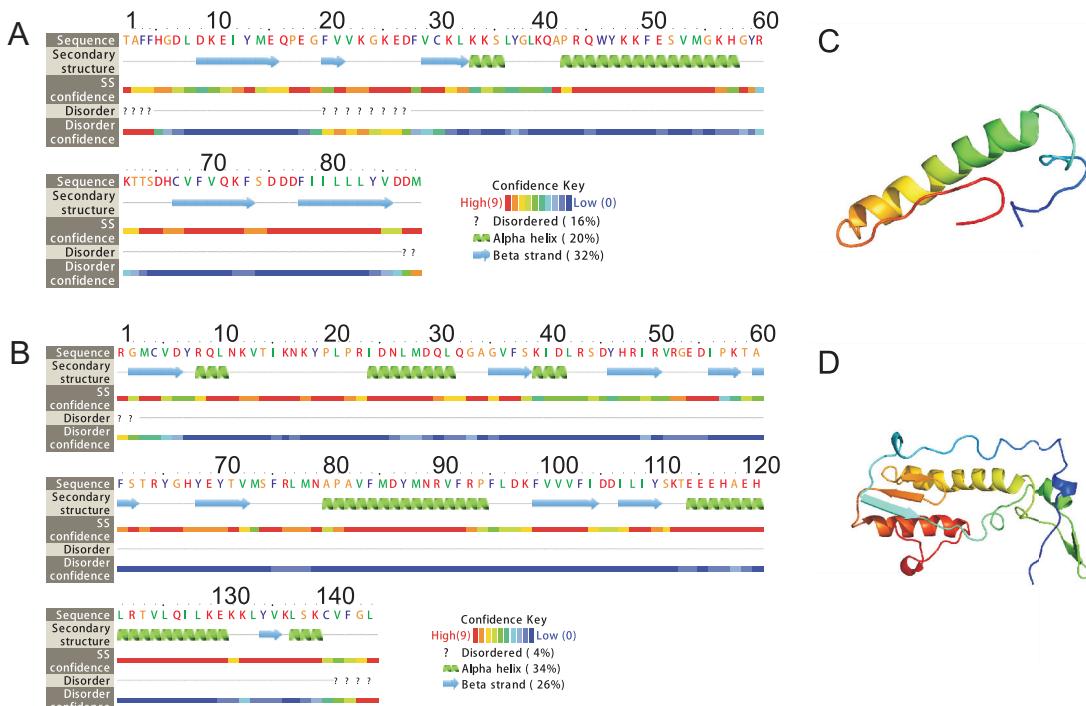
Fig. 4 Multiple alignment of amino acid sequences of LTR retrotransposon reverse transcriptase gene (RT) amplified from *Arachis ipaensis*

1类的代表序列蛋白三级结构匹配覆盖度最高的模板为 d1hara, 置信度为 61.9% ~ 83.1%, 2类的代表序列蛋白三级结构匹配覆盖度最高的模板为 c2opqa, 置信度均为 100%, 都属于反转录酶家族。1类的蛋白质二级结构包含 2个  $\alpha$ -螺旋和 5个  $\beta$ -折叠; 三级结构包含 5或 6个转角和 28 ~ 30个氢键, 存在 1个明显的螺旋结构和 2个不明显的折叠结构。2类蛋白质二级结构包含 5 ~ 6个  $\alpha$ -螺旋和 8 ~ 9个  $\beta$ -折叠; 三级结构包含 17 ~ 19个转角

和 88 ~ 95个氢键, 存在 6个明显的螺旋结构和 8个不明显的折叠结构(图 5)。

## 2.6 LTR 反转录转座子 RT 基因保守基序预测

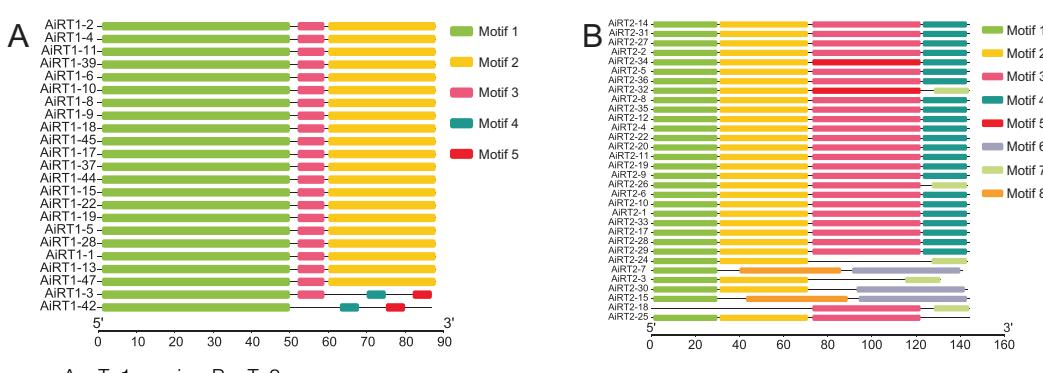
本研究发现, 1类共存在 5种保守基序(motif)(图 6: A), 其中, 有 21条序列同时包含 motif 1 ~ motif 3, 占总序列数的 91.30%, 表明这 3种保守基序是 BB 染色体组野生种花生的主要保守基序; 差异最大的是 AiRT1-3 和 AiRT1-42, AiRT1-3 包含 motif 3, 而 AiRT1-42 不包含 motif 3。



A and C: AiRT1-2; B and D: AiRT2-6.

图 5 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 RT 基因编码蛋白质的二级结构(A 和 B)与三级结构(C 和 D)

Fig. 5 Protein secondary (A and B) and tertiary (C and D) structure of LTR retrotransposon reverse transcriptase gene (RT) amplified from *Arachis ipaensis*



A: Ty1-copia; B: Ty3-gypsy.

图 6 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 RT 保守基序预测

Fig. 6 Prediction of conserved motifs of LTR retrotransposon reverse transcriptase gene (RT) amplified from *Arachis ipaensis*

2类共存在8种保守基序(图6: B),有22条序列同时包含motif 1~motif 4; AiRT2-32和AiRT2-34中的motif 5虽然在位置上与motif 3一致,但氨基酸的种类和排列顺序差异较大; motif 6只存在于AiRT2-7、AiRT2-30和AiRT2-15中,且位于序列的下游部分,在系统进化树中,这3条序列亲缘关系较近;有5条序列包含motif 7,系统进化树分析发现该保守基序对家族分类影响不大; motif 8只存在于AiRT2-7和AiRT2-15中。motif 5~motif 8在所克隆序列中出现的频率较低,可能是进化过程中发生突变所致。

## 2.7 LTR 反转录转座子 *RT* 基因序列的系统进化树构建

系统进化树分析结果显示,可将1类中的序列进一步划分为4类(I~IV)(表2,图7: A)。I类包含12条来自BB染色体组野生种花生和9条来自其他物种的*RT*基因序列,说明来自BB染色体组野生种花生的12条*RT*基因序列与来自葡萄(*Vitis vinifera* L., CAN72446.1)、马铃薯(*Solanum tuberosum* L., CAA13065.1)、矮牵牛(*Petunia hybrida* (J. D. Hooker) Vilmorin, AAA33707.1)、辣椒(*Capsicum annuum* L., AFS89513.1)、烟草(*Nicotiana tabacum* L., AAA03507.1)、番茄(*Lycopersicon esculentum* Miller, AF072638.1)、西洋参(*Panax quinquefolius* L., ABU94811.1)、野茶树(*Camellia sinensis* var. *assamica* (Mast.) Kitam., CAJ09751.1)和欧洲云杉(*Picea abies* (L.) H. Karsten, O49918)的序列具有较高相似性,亲缘关系较近。II类只含有6条来自BB染色体组野生种花生的*RT*基因序列,说明该类序列具有较高保守性。I类和II类分别包含12条和6条来自BB染色体组野生种花生的*RT*基因序列,分别占本研究中BB染色体组野生种花生序列总数的52.17%和26.09%,表明BB染色体组野生种花生的*RT*基因序列具有较高保守性与相似性。III类中的4条BB染色体组野生种花生*RT*基因序列与来自香橼(*Citrus medica* L., CAJ85619.1)、甜菜(*Beta vulgaris* L., T14589)、大豆(*Glycine max* (L.) Merr., E47759)、火龙果(*Selenicereus undatus* 'Foo-Lon', AOS58455.1)、橙(*Citrus sinensis*

L. Osbeck, CAJ41389.1)和杨(*Populus ciliata* Wall. apud Royle var. *gyirongensis*, AAT73704.1)的序列之间相似性较高,亲缘关系较近。AiRT1-42在核苷酸聚类分析中单独归为一类,但在与其他物种的*RT*基因编码氨基酸序列进行系统进化树构建时,发现该序列与来自紫茉莉(*Mirabilis jalapa* L., AOW44030.1)、铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et MigoKimura et Migo, AIL54325.1)和草莓(*Fragaria x ananassa* Duch., ACZ81628.1)等物种的序列具有较高相似性,亲缘关系较近,但与其他野生种花生*RT*基因遗传距离最远。

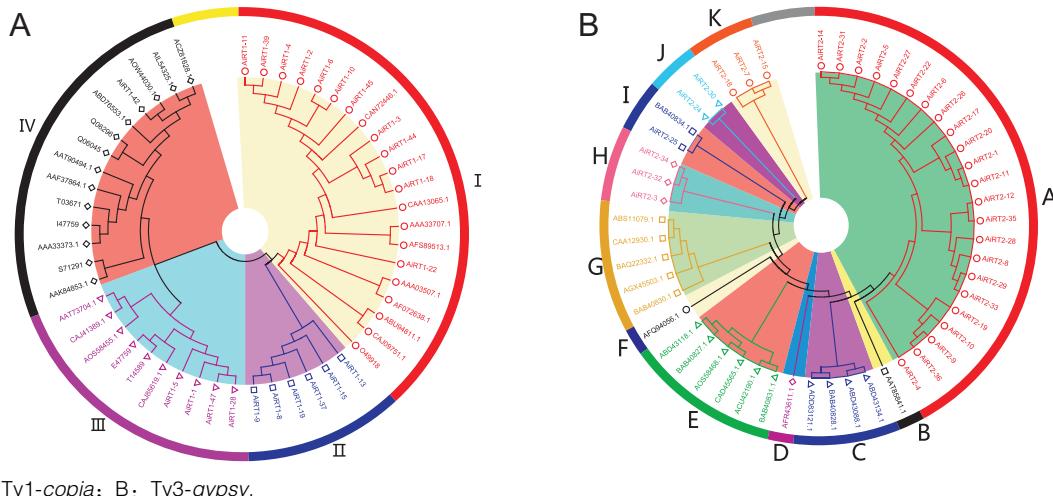
系统进化树分析结果显示可将2类中的序列进一步划分为11类(A~K)(图7: B)。A类只含有来自BB染色体组野生种花生的23条序列,占总序列数的71.88%,表明BB染色体组野生种花生的*RT*基因序列具有相当高的保守性与相似性。B~G类均是来自其他物种的*RT*基因序列,这些序列与大部分BB染色体组野生种花生*RT*基因序列的遗传距离较远,亲缘关系较远。H、J和K类分别包含3、2、3条*RT*基因序列。I类中的AiRT2-25与来自大豆的BAB40834.1之间亲缘关系最近,两者均属于双子叶豆科植物,可能具有共同起源。从系统进化树上还可以看出,部分BB染色体组野生种花生LTR反转录转座子的*RT*基因与其他物种的*RT*基因聚在一起,它们之间具有较高相似性,说明BB染色体组野生种花生LTR反转录转座子在进化过程中可能与其他物种之间发生了横向传递。

## 2.8 LTR 反转录转座子转录活性分析

将1类和2类序列提交到NCBI在线网站,与花生EST数据库进行比对,以检测1类和2类序列的转录活性。结果显示, AiRT1-5与GO261731.1之间的一致性为95.11%; AiRT2-1、AiRT2-11、AiRT2-20与GO266033.1之间的一致性分别为87.89%、90.53%、88.70%; AiRT2-8、AiRT2-15、AiRT2-28、AiRT2-33与GO261148.1之间的一致性分别为86.26%、87.20%、85.99%和87.62%(表3),说明这3条EST序列为花生LTR反转录转座子的部分序列。

表2 部分物种 LTR 反转录转座子 RT 基因的序列信息  
 Table 2 Information on amino acid sequences of LTR retrotransposon reverse transcriptase genes (RT) from other species

LTR 反转录转座子 LTR Retrotransposon	科 Family	物种 Species	登录号 Accession No.
Ty1-copia-like		烟草 <i>Nicotiana tabacum</i> L.	AAA03507.1
		马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i> L.	CAA13065.1
	茄科	辣椒 <i>Capsicum annuum</i> L.	AFS89513.1
		番茄 <i>Lycopersicon esculentum</i> Miller	AF072638.1
		矮牵牛 <i>Petunia hybrida</i> (J. D. Hooker) Vilmorin	AAA33707.1
	芸香科	橙 <i>Citrus sinensis</i> L. Osbeck	CAJ41389.13
		香橼 <i>Citrus medica</i> L.	CAJ85619.1
	豆科	绿豆 <i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek	AAT90494.1
		大豆 <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	E47759
	菊科	向日葵 <i>Helianthus annuus</i> L.	AAA33373.1
	兰科	铁皮石斛 <i>Dendrobium officinale</i> Kimura et Migo	AIL54325.1
		水稻 <i>Oryza sativa</i> L.	T03671
	禾本科	玉米 <i>Zea mays</i> L.	AAK84853.1
		燕麦 <i>Avena sativa</i> L.	I47759
	蔷薇科	草莓 <i>Fragaria x ananassa</i> Duch.	ACZ81628.1
		苹果 <i>Malus domestica</i> Mill.	ABD76553.1
	藜科	甜菜 <i>Beta vulgaris</i> L.	T14589
	十字花科	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	S71291
	山茶科	野茶树 <i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> (Mast.) Kitam.	CAJ09751.1
	松科	欧洲云杉 <i>Picea abies</i> (L.) H. Karsten	O49918
	杨柳科	杨树 <i>Populus ciliata</i> Wall. apud Royle var. <i>gyirongensis</i> C. Wang et Tung	AAT73704.1
	五加科	西洋参 <i>Panax quinquefolius</i> L.	ABU94811.1
	葡萄科	葡萄 <i>Vitis vinifera</i> L.	CAN72446.1
	仙人掌科	火龙果 <i>Selenicereus undatus</i> (Haw.) D. R. Aunt 'Foo-Lon'	AOS58455.1
	紫茉莉科	紫茉莉 <i>Mirabilis jalapa</i> L.	AOW44030.1
	旋花科	番薯 <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lamarck	AAF37864.1
	蕨类	桂香蕨 <i>Osmundastrum cinnamomeum</i> (L.) C. Presl	Q06296
	四胞藻目	团藻 <i>Volvox carteri</i> F. Stein	Q06045
Ty3-gypsy-like	松科	白皮松 <i>Pinus bungeana</i> Zucc. et Endi.	ABD43118.1
		落叶松 <i>Larix gmelinii</i> (Ruprecht) Kuzeneva	BAQ22332.1
	葫芦科	黄瓜 <i>Cucumis sativus</i> L.	ADD83121.1
	禾本科	多花黑麦草 <i>Lolium multiflorum</i> lamk.	BAB40827.1
	豆科	大豆 <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	BAB40834.1
		绿豆 <i>Vigna radiata</i> (L.) Wilczek	AAT85841.1
	蔷薇科	果梅 <i>Prunus mume</i> Sieb. et Zucc.	ACU42190.1
		苹果 <i>Malus domestica</i> Mill.	ABS11079.1
	仙人掌科	火龙果 <i>Selenicereus undatus</i> (Haw.) D. R. Aunt 'Foo-Lon'	AOS58468.1
	菊科	菊花 <i>Chrysanthemum × morifolium</i> Ramat	BAB40831.1
	列当科	列当 <i>Orobanche owerinii</i> Steph.	ABD43088.1
		列当 <i>Orobanche owerinii</i> Steph.	ABD43134.1
	毛茛科	牡丹 <i>Paeonia suffruticosa</i> Andr.	AFQ94056.1
	十字花科	拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh.	BAB40828.1
	桑科	山桑 <i>Morus bombycina</i> Schneid. var. <i>diabolica</i> Koidz.	BAB40830.1
	棕榈科	油棕 <i>Elaeis guineensis</i> Jacq.	CAD45565.1
	鼠李科	枣 <i>Ziziphus jujuba</i> Mill.	AFR43611.1
	银杏科	银杏 <i>Ginkgo biloba</i> L.	CAA12930.10



A: Ty1-copia; B: Ty3-gypsy.

图 7 BB 染色体组野生种花生与其他物种 LTR 反转录转座子 RT 基因序列的系统进化树

Fig. 7 Phylogenetic tree of LTR retrotransposon reverse transcriptase gene (RT) from *Arachis ipaensis* and other species

表 3 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 RT 基因序列与 EST 数据库比对结果

Table 3 Sequence alignment results of LTR retrotransposon reverse transcriptase genes (RT) from *Arachis ipaensis* with EST database

序号 Sequence No.	目标序列 Target sequence	查询覆盖度 Query coverage / %	E 值 E value	一致性 Identity / %
AiRT1-5	GO261731.1	100	3E-114	95.11
AiRT2-1	GO266033.1	97	8E-137	87.89
AiRT2-8	GO261148.1	97	6E-123	86.26
AiRT2-11	GO266033.1	95	8E-152	90.53
AiRT2-15	GO261148.1	97	4E-130	87.20
AiRT2-20	GO266033.1	96	1E-140	88.70
AiRT2-28	GO261148.1	97	1E-120	85.99
AiRT2-33	GO261148.1	97	2E-132	87.62

### 3 讨论

本研究选取的 *A. ipaensis* 为花生属花生区组二倍体野生种 ( $2n=2x=20$ )，研究发现该物种为栽培种花生的祖先野生种之一，为 BB 染色体组供体。Bertioli 等<sup>[32]</sup>率先破译了 *A. ipaensis* (K30076) 的全基因组；Lu 等<sup>[33]</sup>对该物种 (ICG\_8206) 进行了全基因组测序。而本研究分离获得的 BB 染色体组野生种花生 LTR 反转录转座子 RT 基因序列可以作为利用生物信息学鉴定 LTR 反转录转座子的有益补充。

本研究证实采用简并引物从本文野生种花生中扩增分离 LTR 反转录转座子 RT 基因序列的策略是行之有效的方法<sup>[28, 34]</sup>，也说明 LTR 反转录转座子

存在于该物种的基因组中。

本研究中两类序列均在长度上表现出多样性，且核苷酸序列也呈现出较高异质性。1类和2类基因的氨基酸序列分别呈较高异质性和高度的异质性；1类基因的保守基序保守性较高，而2类的保守基序存在一定程度的变异；1类基因的无义突变率远比2类基因低，终止密码子使得基因功能丧失或改变。

聚类分析结果表明，AiRT1-42 和 AiRT2-25 分别单独聚类，造成序列 AiRT1-42 单独聚类的原因可能是碱基缺失，造成序列 AiRT2-25 单独聚类的原因可能是碱基突变。各家族代表序列的蛋白质三级结构在整体构型上基本类似，但在螺旋结构数、折叠结构数、转角数和氢键数上存在细微差别，推测这些细微差别可能会影响 LTR 反转录转座子的转录活性、转座效率以及拷贝数等。对比两类序列的蛋白质结构，发现2类基因序列之间蛋白质结构差异更大，表明它们具有更高的异质性和多态性。系统进化分析结果显示，1类和2类基因分别被划分为4类和11类，虽然各自均有主要大类，但2类基因的类别和多样性明显高于1类，这与氨基酸序列异质性、保守基序多态性、终止密码子突变发生率及蛋白质三级结构多样性的研究结果一致。

比对花生 EST 数据库，显示1条1类序列与1条EST序列的一致性较高；7条2类序列与2条EST序列的一致性较高，表明 BB 染色体组野生种花生 Ty3-gypsy 类反转录转座子比 Ty1-copia 类反

转录转座子更具有转录活性。

本研究分离出 BB 染色体组野生种花生 Ty1-copia 类和 Ty3-gypsy 类反转录转座子 *RT* 基因, 分别发现 1 条和 7 条具有转录活性的 Ty1-copia 类和 Ty3-gypsy 类反转录转座子, 为进一步研究 LTR 反转录转座子的转录活性、功能及调控研究奠定了基础。

## 参考文献:

- [ 1 ] 熊发前, 蒋菁, 钟瑞春, 韩柱强, 贺梁琼, 等. 目标起始密码子多态性 (SCoT) 分子标记技术在花生属中的应用 [J]. 作物学报, 2010, 36(12): 2055–2061.  
Xiong FQ, Jiang J, Zhong RC, Han ZQ, He LQ, et al. Application of SCoT molecular markers in genus *Arachis* [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 36(12): 2055–2061.
- [ 2 ] Xiong FQ, Zhong RC, Han ZQ, Jiang J, He LQ, et al. Start codon targeted polymorphism for evaluation of functional genetic variation and relationships in cultivated peanut (*Arachis hypogaea* L.) genotypes [J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(5): 3487–3494.
- [ 3 ] Kumar A, Pearce SR, McLean K, Harrison G, Heslop-Harrison JS, et al. The Ty1-copia group of retrotransposons in plants: genomic organisation, evolution and use as molecular markers [J]. *Genetica*, 1997, 100: 205–217.
- [ 4 ] Kumar A, Bennetzen JL. Plant retrotransposons [J]. *Annu Rev Genet*, 1999, 33: 479–532.
- [ 5 ] Feschotte C, Jiang N, Wessler SR. Plant transposable elements: where genetics meets genomics [J]. *Nat Rev Genet*, 2002, 3(5): 329–341.
- [ 6 ] Bonchev G, Parisod C. Transposable elements and microevolutionary changes in natural populations [J]. *Mol Ecol Resour*, 2013, 13(5): 765–775.
- [ 7 ] Waugh R, McLean K, Flavell AJ, Pearce SR, Kumar A, et al. Genetic distribution of Bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequence-specific amplification polymorphisms (S-SAP) [J]. *Mol Gen Genet*, 1997, 253(6): 687–694.
- [ 8 ] Kalender R, Grob T, Regina M, Suoniemi A, Schulman A. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 98(5): 704–711.
- [ 9 ] Patel M, Jung S, Moore K, Powell G, Ainsworth C, Abbott A. High-oleate peanut mutants result from a MITE insertion into the *FAD2* gene [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108(8): 1492–1502.
- [ 10 ] Gowda MVC, Bhat RS, Motagi BN, Sujay V, Kumari V, Sujatha B. Association of high-frequency origin of late leaf spot resistance mutants with *AhMITE1* transposition in peanut [J]. *Plant Breed*, 2010, 129(5): 567–569.
- [ 11 ] Gowda MVC, Bhat RS, Sujay V, Kusuma P, Varshakumari, et al. Characterization of *AhMITE1* transposition and its association with the mutational and evolutionary origin of botanical types in peanut (*Arachis* spp.) [J]. *Plant Syst Evol*, 2011, 291(3–4): 153–158.
- [ 12 ] Shirasawa K, Hirakawa H, Tabata S, Hasegawa M, Kiyoshima H, et al. Characterization of active miniature inverted-repeat transposable elements in the peanut genome [J]. *Theor Appl Genet*, 2012, 124(8): 1429–1438.
- [ 13 ] Shirasawa K, Koilkonda P, Aoki K, Hirakawa H, Tabata S, et al. In silico polymorphism analysis for the development of simple sequence repeat and transposon markers and construction of linkage map in cultivated peanut [J]. *BMC Plant Biol*, 2012, 12: 80.
- [ 14 ] Shirasawa K, Bertioli DJ, Varshney RK, Moretzsohn MC, Leal-Bertioli SCM, et al. Integrated consensus map of cultivated peanut and wild relatives reveals structures of the A and B genomes of *Arachis* and divergence of the legume genomes [J]. *DNA Res*, 2013, 20(2): 173–184.
- [ 15 ] Mondal S, Hande P, Badigannavar AM. Identification of transposable element markers for a rust (*Puccinia arachidis* Speg.) resistance gene in cultivated peanut [J]. *J Phytopathol*, 2014, 162(7–8): 548–552.
- [ 16 ] Hake AA, Shirasawa K, Yadawad A, Sukruth M, Patil M, et al. Mapping of important taxonomic and productivity traits using genic and non-genic transposable element markers in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0186113.
- [ 17 ] Gayathri M, Shirasawa K, Varshney RK, Pandey MK, Bhat RS. Development of *AhMITE1* markers through genome-wide analysis in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11: 10.
- [ 18 ] 王洁, 李双铃, 王辉, 石延茂, 任艳, 等. 利用 *AhMITE1* 转座子分子标记鉴定花生 *F<sub>1</sub>* 代杂种 [J]. 花生学报, 2012, 41(2): 8–12.  
Wang J, Li SL, Wang H, Shi YM, Ren Y, et al. Identification of peanut *F<sub>1</sub>* hybrid using *AhMITE1* transposable element marker [J]. *Journal of Peanut Science*, 2012, 41(2): 8–12.
- [ 19 ] 王辉, 李双铃, 任艳, 许梦琦, 石延茂, 等. 利用 *AhMITE* 转座子分子标记研究花生栽培种及高世代材料的亲缘关系 [J]. 农业生物技术学报, 2013, 21(10): 1176–1184.  
Wang H, Li SL, Ren Y, Xu MQ, Shi YM, et al. Genetic relationship of peanut (*Arachis hypogaea* L.) varieties and advanced generation lines evaluated by *AhMITE* transposable markers [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2013, 21(10): 1176–1184.
- [ 20 ] 尹亮, 任艳, 石延茂, 李双铃, 王辉, 袁美. 利用 *AhMITE1* 转座子分子标记鉴定栽培花生杂交 *F<sub>1</sub>* 代种子真伪 [J]. 山东

- 农业科学, 2015, 47(12): 1–5.
- Yin L, Ren Y, Shi YM, Li SL, Wang H, Yuan M. Identification of true  $F_1$  hybrid seeds using *AhMITE1* markers in cultivated peanut [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2015, 47(12): 1–5.
- [21] 许梦琦, 李双铃, 任艳, 石延茂, 王辉, 等. 花生作图亲本间分子标记的多态性分析 [J]. 湖北农业科学, 2015, 54(11): 2763–2766.
- Xu MQ, Li SL, Ren Y, Shi YM, Wang H, et al. Polymorphic analysis of molecular markers between mapping parents in peanut [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2015, 54(11): 2763–2766.
- [22] 吴琪, 曹广英, 尹亮, 唐月异, 王秀贞, 等. 利用 *AhMITE* 转座子分子标记鉴定花生杂交  $F_1$  代真假杂种 [J]. 花生学报, 2017, 46(3): 48–53.
- Wu Q, Cao GY, Yin L, Tang YY, Wang XZ, et al. Identification of peanut hybrid  $F_1$  with *AhMITE* markers [J]. *Journal of Peanut Science*, 46(3): 48–53.
- [23] 刘婷, 王传堂, 唐月异, 王志伟, 孙全喜, 等. 利用近红外技术和转座子标记鉴定花生杂交  $F_1$  真杂种 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(9): 3592–3598.
- Liu T, Wang CT, Tang YY, Wang ZW, Sun QX, et al. Identification of true  $F_1$  hybrids in peanut with near infrared spectroscopy and transposon markers [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15(9): 3592–3598.
- [24] Nielsen S, Campos-Fonseca F, Leal-Bertioli S, Guimaraes P, Seijo G, et al. FIDEL-a retrovirus-like retrotransposon and its distinct evolutionary histories in the A- and B-genome components of cultivated peanut [J]. *Chromosome Res*, 2010, 18(2): 227–246.
- [25] Nielsen S, Vidigal BS, Leal-Bertioli SCM, Ratnaparkhe M, Paterson AH, et al. *Matita*, a new retroelement from peanut: characterization and evolutionary context in the light of the *Arachis* A–B genome divergence [J]. *Mol Genet and Genomics*, 2012, 287(1): 21–38.
- [26] 熊发前, 刘俊仙, 贺梁琼, 韩柱强, 黄志鹏, 等. 花生 LTR 和 MITE 转座子及其分子标记开发利用研究进展 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(2): 640–647.
- Xiong FQ, Liu JX, He LQ, Han ZQ, Huang ZP, et al. Recent advances on the development and utilization of molecular markers based on LTR retrotransposons and MITE transposons from peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15(2): 640–647.
- [27] 熊发前, 刘俊仙, 刘菁, 贺梁琼, 蒋菁, 等. 花生 DNA 的五种改良 CTAB 提取方法的比较分析及其应用 [J]. 分子植物育种, 2019, 17(7): 2207–2216.
- Xiong FQ, Liu JX, Liu J, He LQ, Jiang J, et al. Comparative analysis and application of five improved CTAB extraction methods for peanut DNA [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2019, 17(7): 2207–2216.
- [28] Kumekawa N, Ohtsubo E, Ohtsubo H. Identification and phylogenetic analysis of *gypsy*-type retrotransposons in the plant kingdom [J]. *Genes Genet Syst*, 1999, 74(6): 299–307.
- [29] 阳太亿, 刘俊仙, 刘菁, 蒋菁, 韩柱强, 等. 四倍体野生种花生 *Ty1-copia* 类逆转座子逆转录酶基因的克隆与分析 [J]. 山东农业科学, 2019, 51(9): 9–20.
- Yang TY, Liu JX, Liu J, Jiang J, Han ZQ, et al. Cloning and analysis of reverse transcriptase of *Ty1-copia*-like retrotransposons in *Arachis monticola* [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 51(9): 9–20.
- [30] 郭晓芳, 贾举庆, 张晓军, 张春来, 张美俊, 等. 裸燕麦 *Ty1-copia* 类反转录转座子反转录酶序列的分离、鉴定与分析 [J]. 植物科学学报, 2018, 36(5): 721–728.
- Guo XF, Jia JQ, Zhang XJ, Zhang CL, Zhang MJ, et al. Isolation, identification and characterization of reverse transcriptase sequence from *Ty1-copia* retrotransposon in *Avena nuda* [J]. *Plant Science Journal*, 2018, 36(5): 721–728.
- [31] 张文波, 陈凌, 李雪辉, 白玉娥, 林晓飞. 兴安落叶松 *Ty3-gypsy* 类逆转座子逆转录酶的多样性分析 [J]. 分子植物育种, 2016, 14(5): 1098–1106.
- Zhang WB, Chen L, Li XH, Bai YE, Lin XF. Sequence diversity analysis of reverse transcriptases of *Ty3-gypsy*-like retrotransposons in *Larix gmelinii* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14(5): 1098–1106.
- [32] Bertioli DJ, Cannon SB, Froenicke L, Huang G, Farmer AD, et al. The genome sequences of *Arachis duranensis* and *Arachis ipaensis*, the diploid ancestors of cultivated peanut [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(4): 438–446.
- [33] Lu Q, Li HF, Hong YB, Zhang GQ, Wen SJ, et al. Genome sequencing and analysis of the peanut B-genome progenitor (*Arachis ipaensis*) [J]. *Front Plant Sci*, 2018, 9: 604.
- [34] Voytas DF, Cummings MP, Konieczny A, Ausubel FM, Rodermel SR. Copia-like retrotransposons are ubiquitous among plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(15): 7124–7128.

(责任编辑: 周媛)